UNTERSUCHUNGEN ZUR CHOLESTERIN-SYNTHESE IN DER RATTENLEBER UNTER DER EINWIRKUNG VERSCHIEDENER SERUMCHOLESTERINSENKENDER MEDIKAMENTE

Otto Huber

1972

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41546016_0054

AUS DER MEDIZINISCHEN POLIKLINIK DER UNIVERSITÄT MÜNCHEN

Direktor: Prof. Dr. W. Seitz

UNTERSUCHUNGEN ZUR CHOLESTERINSYNTHESE IN DER RATTENLEBER UNTER DER EINWIRKUNG VERSCHIEDENER SERUMCHOLESTERINSENKENDER MEDIKAMENTE

Inaugural - Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin

verfaßt und

einer hohen Medizinischen Fakultät

der Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von

Otto Huber

aus München

München 1972

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Berichterstatter: Priv. Doz. Dr. W. Kaiser
Mitberichterstatter: Prof. Dr. W. Seitz
Dekan: Prof. Dr. W. Spann

Tag der mündlichen Prüfung: 21.November 1972

DISSERTATIONS – und FOTODRUCK FRANK oHG
8000 München 2 · Gabelsbergerstr. 15 · Tel.: 2 80 90 90

Meinen Eltern gewidmet

INHALTSÜBERSICHT

Seite

1. EINLEITUNG 1

2. ABKÜRZUNGEN 5

3. METHODIK 6

a. Versuchstiere

b. Verabreichung und Dosierung der serumcholesterinsenkenden Medikamente

c. Gewinnung der Leberschnitte

d. Bestimmung der in vitro Cholesterinsynthese

d.a. Inkubation der Leberschnitte

d.b. Extraktion des eingebauten ^{14}C-Cholesterins

d.c. Isolierung des eingebauten ^{14}C-Cholesterins mit Hilfe der Dünnschichtchromatographie

d.d. Radioaktivitätsbestimmungen

d.e. Verwendete Substanzen

4. ERGEBNISSE 10

a. ^{14}C-Cholesterinsynthese bei oraler Verabreichung von Nikotinsäure

b. - von ß-Pyridylcarbinol

c. - von α-Äthyl-chlorphenoxy-isobutyrat (CPIB)

5. DISKUSSION 27

6. ZUSAMMENFASSUNG 32

7. LITERATURHINWEISE 33

8. LEBENSLAUF 38

1. EINLEITUNG

Eine Fülle von prospektiven epidemiologischen Studien zeigt, daß das relative Risiko zur Entwicklung einer coronaren Herzerkrankung eine klare Beziehung zum Serumcholesterinspiegel aufweist (9).
Es gibt jedoch auch Hinweise für eine mögliche Beteiligung anderer Blutlipide, vor allem der Triglyceride, bei der Entwicklung einer Atherosklerose.

Beim Menschen scheint die Gefährdung zur Entwicklung einer coronaren Atherosklerose in einem direkten Verhältnis zur Konzentration der Lipide und ihrer Lipoproteide zu stehen. Die in gewisser Weise fundierte Annahme, daß der Cholesterinspiegel des Serums - möglicherweise in geringerem Maße auch der anderen Serumlipide - einen der Haupteinflüsse auf Beginn und Fortschreiten einer Atherosklerose in sich birgt, führte dazu, den Cholesterinspiegel im Serum diätetisch und medikamentös bei gefährdeten Personen zu senken.

Es wurden inzwischen zahlreiche Medikamente gefunden und in die Therapie eingeführt, die im Tierexperiment und auch beim Menschen serumcholesterinsenkend wirken, wobei meist noch eine genaue Kenntnis der Wirkungsweise im molekularen Bereich fehlt. Verwendet werden

im Augenblick in der Therapie der Hypercholesterinämie folgende Medikamente, mit unterschiedlichem Erfolg und vermutlich differenten Wirkungsmechanismen:

α-Chlorphenoxyisobutyrat (CPIB)
Nikotinsäure und deren Alkohol ß-Pyridylcarbinol
d-Thyroxin
und vereinzelt auch Cholestyramin.

Cholestyramin, ein Anionenaustauscher, vermindert die Gallensäure- und Cholesterinabsorption aus dem Gastrointestinaltrakt.
Aus tierexperimentellen Untersuchungen ist bekannt, daß die dabei zustande gekommene Senkung des Serumcholesterins durch Hemmung in der Absorption von Nahrungscholesterin, meist jedoch wieder ausgeglichen wird durch eine konsekutive Steigerung der Cholesterinsynthese in der Leber. Die serumcholesterinsenkende Wirkung von d-Thyroxin bekommt in letzter Zeit in der Therapie etwas mehr Bedeutung; sie kommt durch einen erhöhten Turnover und einen gesteigerten Katabolismus von Cholesterin zustande, die Anwendung dieses Medikaments scheint jedoch bei bestimmten Personen mit stärkerer Coronarsklerose durch eine Steigerung des Basalstoffwechsels ungünstige Einflüsse auszuüben.
CPIB senkt die Cholesterinkonzentration im Serum und in der Leber bei Ratten, das Serumcholesterin beim

Menschen sowie die Serumtriglyceride bei Ratten und beim Menschen (4, 15, 26). Der genaue Wirkungsmechanismus dabei ist nicht bekannt, diskutiert wird die Hemmung der Cholesterinsynthese in der Leber an einem frühen Schritt der Cholesterinsynthese, eine Verminderung der Lipoproteidsynthese in der Leber bzw. ein Einfluß bei der Einschleusung der Lipoproteide von der Leber in das Serum (1, 11).

Die Nikotinsäure und deren Derivate, z.B. ß-Pyridylcarbinol, senkt sowohl den Cholesterin- als auch den Triglyzeridspiegel im Serum beim Tier und beim Menschen. Auch hier sind die primären Wirkungsmechanismen nicht hinreichend genau geklärt, in Frage kommt wiederum eine Hemmung der Cholesterinsynthese und eine Inhibition der peripheren Lipolyse.

Mit den hier von uns durchgeführten Untersuchungen bestimmten wir die in vitro Cholesterinsynthese in der Leber bei männlichen Ratten nach peroraler Zufuhr von Nikotinsäure, ß-Pyridylcarbinol und CPIB über verschiedene Zeiträume (zwischen 6 bis etwa 30 Tagen).

Das in der Leber synthetisierte Cholesterin stellt den weitaus größten Teil des endogen synthetisierten Cholesterins dar, der Leber wird die Hauptwirkung bei der Kontrolle des Cholesterinspiegels zugesprochen.

Bei der Regulation der Cholesterinsynthese - zumindest bei der Ratte - scheint unter bestimmten physiologischen und experimentellen Bedingungen besonders der Schritt zwischen ß-Hydroxy-ß-Methylglutaryl-CoA und Mevalonat katalysiert durch HMG-CoA-Reductase eine entscheidende, die Reaktionsgeschwindigkeit bestimmende Bedeutung zu besitzen (5, 13, 22, 23).

Bei Cholesterinfütterung und während einer Fastenperiode erzeugt man bei der Ratte eine Hemmung der Cholesterinsynthese in der Leber, erkennbar an einem verminderten Einbau von ^{14}C-Acetat in Cholesterin und einer Verminderung der Enzymaktivität der ß-Hydroxy-ß-Methyl-Glutaryl-CoA-Reduktase (20, 21, 24, 25). Diese physiologische Feedback-Regulation könnte nun theoretisch auch durch Medikamente, die den Serumcholesterinspiegel senken, beeinflußbar sein. Deshalb untersuchten wir den ^{14}C-Acetat- und ^{14}C-Mevalonateinbau in Cholesterin unter <u>in vitro</u> Bedingungen nach vorheriger peroraler Gabe der verschiedenen Medikamente.

Eine Hemmung der Cholesterinsynthese am geschwindigkeitsbestimmenden Schritt, der ß-Hydroxy-ß-Methyl-Glutaryl-CoA-Reduktase, würde zu einer Verminderung des ^{14}C-Acetateinbaus, jedoch nicht zu einer Senkung des ^{14}C-Mevalonateinbaus führen.

2. ABKÜRZUNGEN

CPIB = α-Äthyl-chlorphenoxy-isobutyrat

HMG = ß-Hydroxy-ß-Methyl-Glutaryl

HMG + CoA-Reduktase = ß-Hydroxy-ß-Methyl-Glutaryl-Coenzym A-Reduktase

Ipm = Impulse pro Minute

3. METHODIK

a. Versuchstiere

In den Untersuchungen wurden männliche Wistar-Ratten mit einem Körpergewicht von ca 150-180 g verwendet. Die Ratten wurden mit kommerzieller Volldiät (Altromin R 15) und Leitungswasser ad libidum gefüttert.

b. Verabreichung und Dosierung der serumcholesterinsenkenden Medikamente

b.a. ß-Pyridylcarbinol:

Dieses Medikament wurde in aqua dest. gelöst und homogen auf die Pallets verteilt. Die Dosierung betrug 250mg/kg Körpergewicht/die.

b.b. Nikotinsäure:

Zur normalen Diät wurde den Ratten 200 mg/die/Ratte Nikotinsäure (in aqua dest. gelöst) gleichmäßig auf die Pallets verteilt, über die verschiedenen Zeiträume verabreicht.

b.c. CPIB:

Die Lösung des Medikaments erfolgte in Aceton: Äther 1:1, bzw. Chloroform: Methanol 1:1. Die Dosierung betrug hier 0,3% zur Nahrung, wiederum gleichmäßig auf die Pallets verteilt.

c. Gewinnung der Leberschnitte

Durch einen Schlag auf den Kopf wurden die Tiere betäubt und anschließend durch Enthauptung entblutet. Nach sofortiger Entnahme der Leber wurden mit Hilfe einer Rasierklinge gleichmäßige ca. 0,3 - 0,8 mm dicke, etwa 40 - 80 mg schwere Leberschnitte angefertigt.

d. Bestimmung der in vitro Cholesterinsynthese

d.a. Inkubationsmedium:

Das Inkubationsmedium bestand aus 0,5 ml Krebs-Ringer Bikarbonatpuffer, pH 7,4.

Inkubation:

Start der Einbaureaktion durch Zugabe von ^{14}C-Acetat bzw. ^{14}C-Mevalonat (0,6 mM, 0,05 ml, 1,5 /uC)

Inkubationszeit jeweils 3 Stunden bei 37^{o}C. Wegen der bekannten Tag-Nacht-Rhythmik der Cholesterinsynthese wurden die Versuche jeweils zur gleichen Zeit durchgeführt (8.^{oo} Uhr).

d.b. Stoppen der Reaktion und Extraktion von Cholesterin:

Die Reaktion wurde jeweils durch Zugabe von 0,05 ml 16 M KOH und 1 mg Cholesterin in 0,5 ml Äthanol abs. gestoppt.

Nach Kochen unter Rückfluß (1,5 Std. 120°) wurde 2mal mit 2,5 ml 0,5M NaCl bzw. 0,1M Mevalonsäurelacton, 2mal mit 2,5 ml Äthanol und schließlich 2mal mit je 5 ml Petroläther extrahiert.
Die nach 20 Stunden getrennte obere Phase wurde vorsichtig in Szintillationsgläser abgesaugt und mit Stickstoff bei 27°C eingeengt.

d.c. Nach Lösung des Niederschlags in 0,3 ml Petroläther wurde ein Aliquot auf eine aktivierte Kieselgel G Dünnschichtplatte (0,25 mm dick) aufgetragen.
Mit Hexan-Diäthyläther 40:70 (V/V) wurde 1,5 Std. lang entwickelt. Die einzelnen Fraktionen wurden mit Joddampf sichtbar gemacht und das eingebaute ^{14}C-Cholesterin in Szintillationsgläser gebracht.

d.d. Radioaktivitätsbestimmungen:
Szintillationslösung:
5g 2,5-Diphenyloxazol,
0,3g Dimethyl-1,4-bis-2-(5-Phenyloxazo)-Benzol
40g Carbosil, Toluol ad 1000,0.
Die Messung erfolgte in einem Packard TRI-Carb Szintillationszähler, Modell 2009. Die Zählausbeute betrug im Durchschnitt 60 - 65%.

Berechnung nach der Formel:

$$\frac{\text{Ipm (Cholesterin)}}{\text{Ipm (Acetat)}} = \frac{\text{Einbau von Acetat in Cholesterin (}\mu\text{Mol/mg/h)}}{\mu\text{Mol Acetat}}$$

d.e. Verwendete Substanzen:

Sodium-acetate-^{14}C (spezifische Aktivität: 4OmC/mM

DL-mevalonolactone-1-^{14}C (spezifische Aktivität: 1,54mC/mM) von Radiochemical Centre Amersham.

All e Substanzen waren von höchstem käuflichen Reinheitsgrad.

4. ERGEBNISSE

Nikotinsäure:

Wie aus Abbildung 1 und Tabelle 1 zu ersehen ist, führt die perorale Gabe von Nikotinsäure in einer Dosis von 200mg/kg Körpergewicht/die innerhalb eines Zeitraumes zwischen 5 bis 36 Tagen zu keiner signifikanten Beeinflussung der *in vitro* Cholesterinsynthese aus Acetat und Mevalonat in den Rattenleberschnitten.

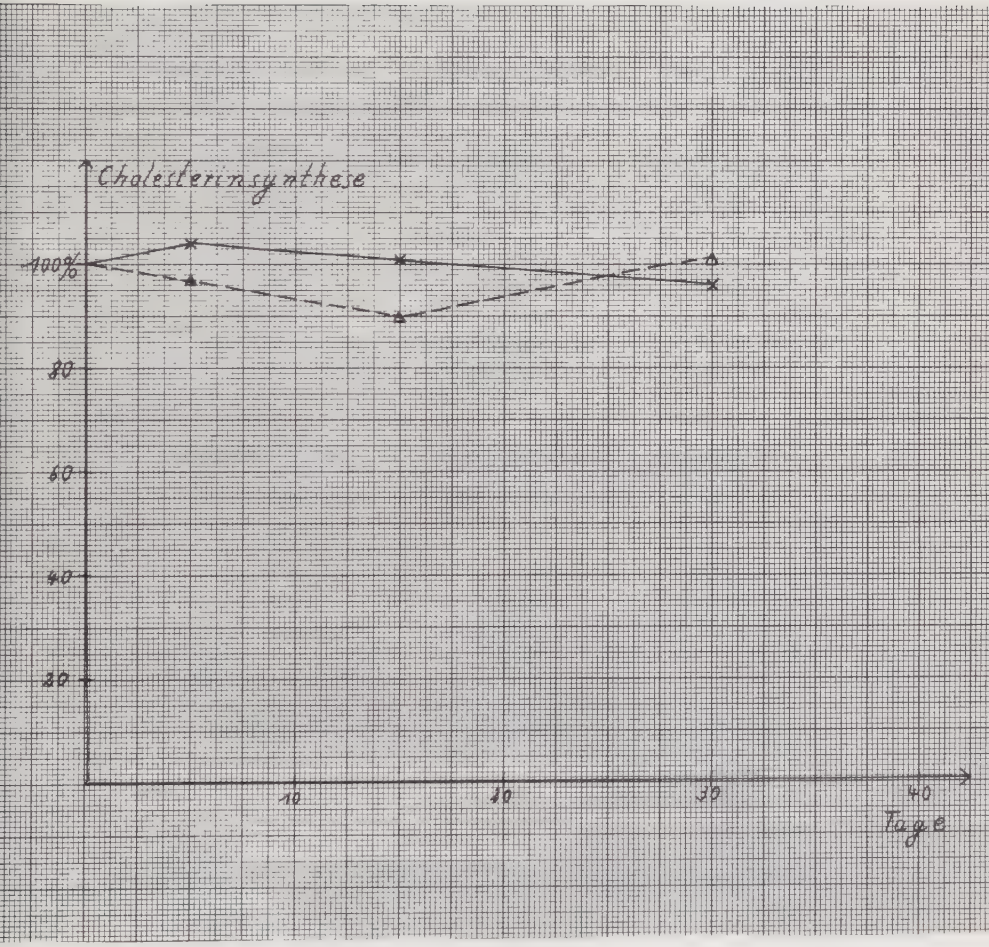

Abb. 1:
In vitro-Einbau von ^{14}C-Acetat (x——x) bzw. ^{14}C-Mevalonat (-Δ---Δ-) in Cholesterin von Rattenleberschnitten. Einfluß von Nikotinsäure (200mg/kg/die). (Einbau in % zu den jeweiligen Kontrollen)

Verabreichungsdauer 5 Tage.

Kontrollen:	Acetateinbau:	Mevalonateinbau:
	43,6	287
	57,0	273
	42,0	297
	66,0	340
	69,0	227
	72,0	286
	68,0	
	$\bar{x} = 60,0 \pm 12,4$	$\bar{x} = 285 \pm 36,4$

Nikotinsäure:	Acetateinbau:	Mevalonateinbau:
	69,0	227
	71,0	286
	68,0	273
	57,0	297
	$\bar{x} = 64 \pm 6,8$	$\bar{x} = 271 \pm 30,8$

Unterschied nicht signifikant.

Tab. 1:

Cholesterinsynthese aus ^{14}C-Acetat und ^{14}C-Mevalonat (nM/g/h) in Rattenleberschnitten, nach peroraler Gabe von Nikotinsäure (200 mg/die/Ratte).

Fortsetzung Tab. 1:

Verabreichungsdauer 15 Tage

Kontrollen:	Acetateinbau:	Mevalonateinbau:
	105	322
	125	421
	94	304
	85	482
	$\bar{x} = 103 \pm 14,7$	$\bar{x} = 382 \pm 84$

Nikotinsäure:	Acetateinbau:	Mevalonateinbau:
	82	521
	131	450
	120	362
	90	316
	$\bar{x} = 108 \pm 21,8$	$\bar{x} = 412 \pm 91,4$

Unterschied nicht signifikant.

Fortsetzung Tab. 1:

Verabreichungsdauer 36 Tage

Kontrollen:	Acetateinbau:	Mevalonateinbau:
	86,0	1180
	81,0	972
	104,0	780
	89,0	959
	$\bar{x}$ = 90 ± 9,9	$\bar{x}$ = 968 ± 139

Nikotinsäure:	Acetateinbau:	Mevalonateinbau:
	91	962
	84	1101
	75	1084
	81	806
	$\bar{x}$ = 83 ± 6,65	$\bar{x}$ = 988 ± 136

Unterschied nicht signifikant.

ß-Pyridylcarbinol:

Der *in vitro* Acetat- und Mevalonateinbau in das Cholesterin der Rattenleberschnitte ergab bei den mit ß-Pyridylcarbinol (250mg/kg Körpergewicht/die) gefütterten Ratten nach einem Zeitraum zwischen 6 bis 36 Tagen keine signifikante Änderung gegenüber den Kontrolltieren (siehe Abb. 2 und Tab. 2).

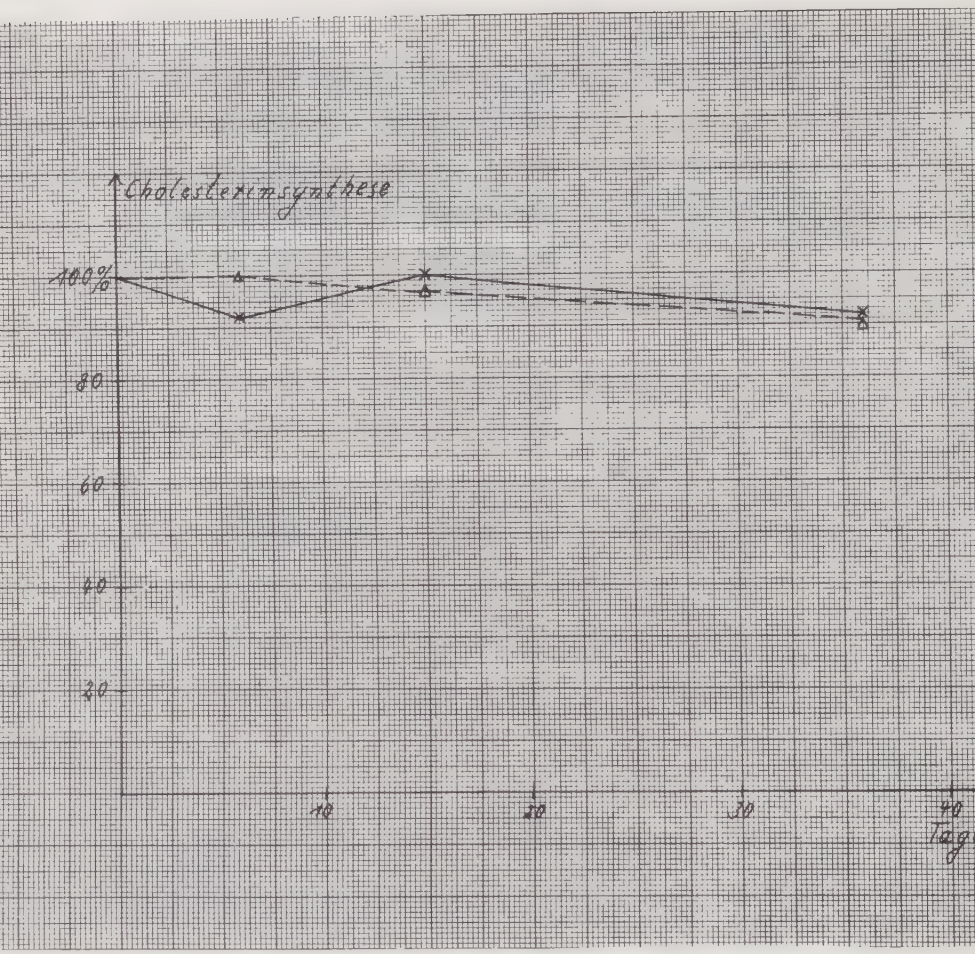

Abb. 2:

In vitro-Einbau von ^{14}C-Acetat (x—x) bzw. -Mevalonat (-Δ--Δ-) in Cholesterin von Rattenleberschnitten. Einfluß von ß-Pyridylcarbinol (250mg/kg/die). (Einbau in % zu den jeweiligen Kontrollen)

Verabreichungsdauer 6 Tage:

Kontrollen:	Acetateinbau:	Mevalonateinbau:
	43,6	287
	57,0	273
	42,6	297
	66,0	340
	69,0	227
	72,0	286
	68,0	
	$\bar{x}$ = 60 ± 12,4	$\bar{x}$ = 285 ± 36,4

ß-Pyridylcarbinol:	Acetateinbau:	Mevalonateinbau:
	56,0	273
	48,6	297
	41,7	342
	65,9	284
	62,4	
	$\bar{x}$ = 54,9 ± 11,6	$\bar{x}$ = 299 ± 31,8

Unterschied nicht signifikant.

Tab. 2:

Cholesterinsynthese aus ^{14}C-Acetat und ^{14}C-Mevalonat (nM/g/h) in Rattenleberschnitten, nach peroraler Gabe von ß-Pyridylcarbinol (250mg/kg/die/Ratte).

Fortsetzung Tab. 2:

Verabreichungsdauer 15 Tage

Kontrollen:	Acetateinbau:	Mevalonateinbau:
	106,0	450
	98,0	457
	113,0	451
	97,0	375
	89,0	274
		320
	$\bar{x}$ = 100,6 ± 10,6	351
		$\bar{x}$ = 383 ± 72,5

ß-Pyridylcarbinol:	Acetateinbau:	Mevalonateinbau:
	127,0	336
	86,0	419
	92,0	314
	104,0	392
	$\bar{x}$ = 102 ± 18,1	$\bar{x}$ = 365 ± 48,6

Unterschied nicht signifikant.

Fortsetzung Tab. 2:

Verabreichungsdauer 36 Tage

Kontrollen:	Acetateinbau:	Mevalonateinbau:
	86,0	1180
	81,0	972
	104,0	780
	89,0	945
		959
	$\bar{x}$ = 90 ± 9,9	$\bar{x}$ = 968 ± 13,6

ß-Pyridylcarbinol:	Acetateinbau:	Mevalonateinbau:
	84,5	951
	83,0	790
	93,0	1076
	79,0	939
	97,0	807
	$\bar{x}$ = 85,4 ± 2,44	$\bar{x}$ = 812 ± 117

Unterschied nicht signifikant.

CPIB

Bei Bestimmung des in vitro Einbaus von ^{14}C-Acetat in das Cholesterin von Rattenleberschnitten (Abb. 3 und Tab. 3) kommt es bereits bei der Untersuchung nach 11 Tagen zu einer Reduktion des Einbaus um 88%. Weitere perorale Gabe von CPIB (0,3% zur Diät) führt bis zum 40. Tag (Abb. 3) zu einer Hemmung des Einbaus um 90%.

Interessanterweise kommt es durch die CPIB-Gabe auch zu einer Hemmung des Mevalonateinbaus, die geringer ist als die Hemmung des ^{14}C-Acetateinbaus und zwischen dem 14. und 30. Tag 52 - 55% beträgt.

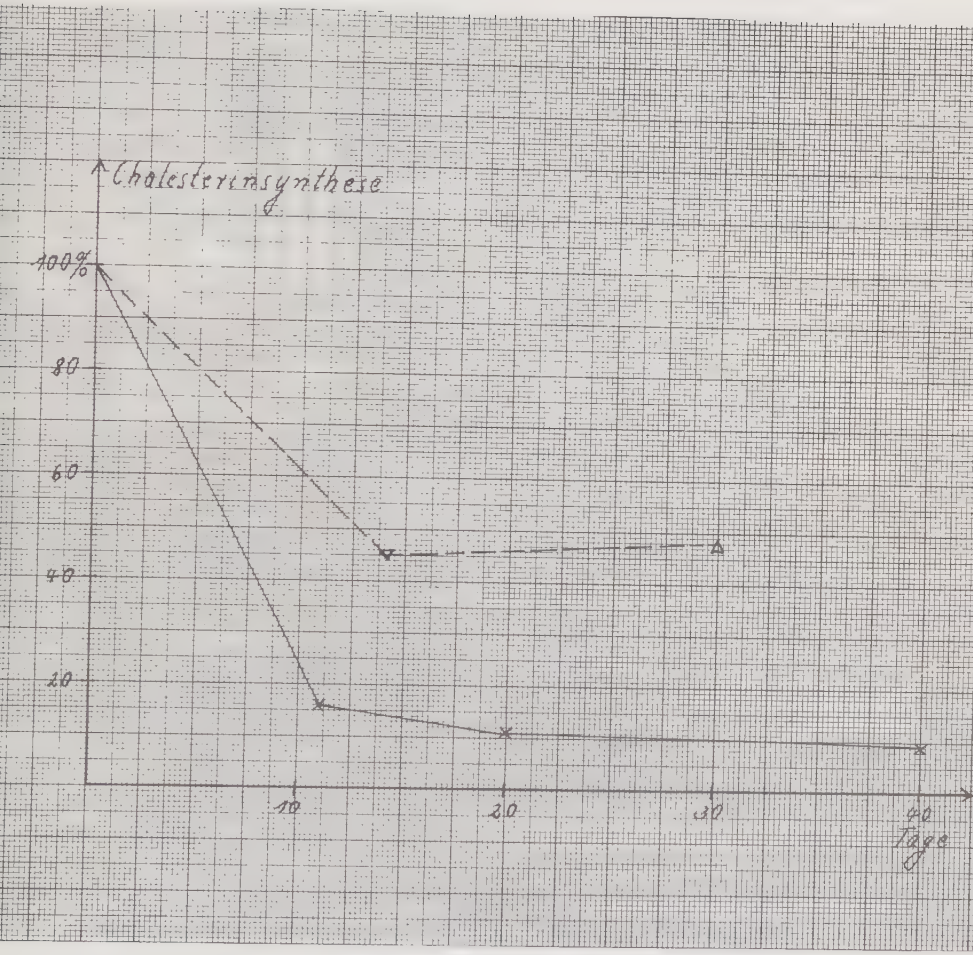

Abb. 3:

In vitro-Einbau von ^{14}C-Acetat (x—x) bzw. ^{14}C-Mevalonat (-Δ---Δ-) in Cholesterin von Rattenleberschnitten. Einfluß von CPIB (0,3% zur Diät). (Einbau in % zu den jeweiligen Kontrollen)

Verabreichungsdauer 11 Tage

Kontrollen:	Acetateinbau:
	69,0
	45,0
	68,0
	57,0
	$\bar{x} = 58,8 \pm 10,1$

CPIB:	Acetateinbau:
	4,4
	7,2
	3,5
	11,0
	6,8
	$\bar{x} = 6,58 \pm 2,92$

Signifikanter Unterschied.

Tab. 3:

Cholesterinsynthese aus ^{14}C-Acetat und ^{14}C-Mevalonat (n/m/g/h) in Rattenleberschnitten, nach peroraler Gabe von CPIB (0,3% zur Diät).

Fortsetzung Tab. 3:

Verabreichungsdauer 14 Tage

Kontrollen:	Mevalonateinbau:
	212
	208
	184
	211
	179
	$\bar{x} = 199 \pm 15,5$

CPIB:	Mevalonateinbau:
	68,9
	97,2
	71,9
	78,0
	87,0
	$\bar{x} = 80,6 \pm 11,2$

Signifikanter Unterschied.

Fortsetzung Tab. 3:

Verabreichungsdauer 30 Tage

Kontrollen:	Mevalonateinbau:
	450
	457
	451
	375
	274
	320
	351
	$\bar{x}$ = 383 $\pm$ 72,5

CPIB:	Mevalonateinbau:
	173
	189
	136
	138
	187
	151
	126
	172
	156
	167
	132
	$\bar{x}$ = 157 $\pm$ 22,2

Signifikanter Unterschied.

Fortsetzung Tab. 3:

Verabreichungsdauer 40 Tage

Kontrollen:	Acetateinbau:
	53,0
	45,2
	57,0
	60,0
	$\bar{x} = 53,8 \pm 6,41$

CPIB:	Acetateinbau:
	1,0
	2,6
	3,6
	2,8
	$\bar{x} = 2,5 \pm 1,09$

Signifikanter Unterschied.

Fortsetzung Tab. 3:

Verabreichungsdauer 70 Tage

Kontrollen:	Acetateinbau:
	89,0
	91,0
	48,0
	78,0
	86,0
	$\bar{x} = 78,4 \pm 17,7$

CPIB:	Acetateinbau:
	4,1
	6,9
	5,1
	5,3
	$\bar{x} = 5,35 \pm 1,16$

Signifikanter Unterschied.

5. DISKUSSION

Nikotinsäure

ALTSCHUL et al. (2) berichteten als erste Autoren über die Senkung des Serumcholesterinspiegels beim Menschen nach Gabe von Nikotinsäure. Bei den verschiedenen Formen der Hypercholesterinämien und Hyperlipoproteinämien des Menschen wird heute die Nikotinsäure in unterschiedlichem Ausmaß bei den verschiedenen Typen der Hypercholesterinämien therapeutisch verwendet.
Neben der Senkung des Serumcholesterinspiegels kommt es dabei auch zu einer Verminderung der Serumkonzentrationen von Triglyzeriden, Phospholipiden und freien Fettsäuren.
Der genaue Wirkungsmechanismus der Nikotinsäure auf den Lipidstoffwechsel ist noch nicht bekannt. Diskutiert wird eine Hemmung der endogenen Cholesterinsynthese (17) und eine Erhöhung des Cholesterinkatabolismus (14).

Aus unseren Ergebnissen über die in vitro Cholesterinsynthese nach peroraler Gabe von Nikotinsäure über verschiedene Zeiträume ist eine signifikante Änderung der Cholesterinsyntheseaktivität durch Nikotinsäure-

verabreichung in der Leber auszuschließen.
Die Wirkung der Nikotinsäure auf die Senkung des Serumcholesterinspiegels wäre eher mit einer Hemmung der Freisetzung der freien Fettsäuren in der Peripherie zu erklären, zumal CARLSON und Mitarbeiter (6, 7, 8) sowie DAYTON et al. (9) eine initiale Senkung im Plasma beobachten konnten.

Es wäre also möglich, daß die Serumcholesterinsenkung über eine Hemmung der Freisetzung freier Fettsäuren aus den Fettgewebsspeichern zustande kommt, das heißt, durch das verminderte Fettsäureangebot würde es zu einer geringeren Lipoproteinsynthese in der Leber kommen und in der Folge davon zu einer Senkung der Serumspiegel von Cholesterin, Triglyzeriden und Phospholipiden.

ß-Pyridylcarbinol

DE RITTER (10) fand nach Gabe von ß-Pyridylcarbinol vermehrt Nikotinsäuremetabolite im menschlichen Urin und RAAFLAUB (18) konnte mit Rattenleberperfusionen zeigen, daß durch die Leberpassage 70 - 80% des Alkohols zu Nikotinsäure oxidiert wird.
Aufgrund dieser Untersuchungen ist es also wahrscheinlich, daß ß-Pyridylcarbinol nach Umwandlung des Alkohols in die freie Säure zu einem Nikotinsäureeffekt führt. In diese Richtung sind auch unsere Ergebnisse zu interpretieren.
Bei Verabreichung von ß-Pyridylcarbinol über verschiedene Zeiträume kommt es ähnlich wie bei Nikotinsäuregabe zu keiner Beeinflussung der *in vitro* Cholesterinsynthese in den Rattenleberschnitten.

CPIB

OLIVER (16) und THORP et al. (26) entdeckten als erste die serumlipidsenkende Wirkung von CPIB. Als Mechanismus für die serumlipidsenkende Wirkung wird eine Beeinflussung der hepatischen Lipoproteinsynthese diskutiert (12). Daneben wurde auch ein erhöhter Lipoproteinkatabolismus beobachtet (19). In der Rattenleber wurde nach Gabe von CPIB eine Cholesterinsynthesehemmung an einem relativ frühen Schritt des Cholesterinstoffwechsels beobachtet (1, 3). Eine genauere Lokalisation des CPIB-Effektes im Cholesterinstoffwechsel ist noch nicht erfolgt.

Unsere Ergebnisse über den Einbau von ^{14}C-Acetat und ^{14}C-Mevalonat zeigen bereits am 11. Tag nach peroraler Gabe eine Reduktion des ^{14}C-Acetateinbaus um 88%. Darüberhinaus ist in unseren Untersuchungen der Mevalonateinbau in die Leberschnitte nach CPIB-Gabe gleichfalls um ca. 40 - 45% gehemmt. Diese Reaktion des Mevalonateinbaus nach CPIB-Gabe muß nun nicht notwendigerweise einen direkten Effekt von CPIB auf Schritte zwischen Mevalonat und Cholesterin wiederspiegeln, da auch nach Langzeitfütterung von Cholesterin bei Ratten eine Hemmung in der Umwandlung von Mevalonat zu Cholesterin beobachtet werden kann,

obwohl hier die Reduktion von HMG-CoA, als primärer Ort der Hemmung in der Cholesterinsynthese, sicher bewiesen ist.

So ist es wahrscheinlich, daß die beobachtete Hemmung der späten Reaktion der Synthesekette nach CPIB-Gabe eher als sekundäre Antwort auf die primäre Hemmung der Mevalonatsynthese (erkenntlich an dem überaus stark verminderten Acetateinbau) aufzufassen ist.

Das heißt, die Hemmung des Mevalonateinbaus könnte einen Substratmangel an Mevalonat widerspiegeln, der sekundär über eine verminderte Mevalonatbildung zustande kommt. Es wäre also deshalb mit einiger Berechtigung anzunehmen, daß der Wirkungsort von CPIB auf die Hemmung der hepatischen Cholesterinsynthese in erster Linie an die Reaktion zwischen Acetat und Mevalonat zu lokalisieren ist.

6. ZUSAMMENFASSUNG

An Rattenleberschnitten untersuchten wir die *in vitro* Cholesterinsynthese nach vorheriger Gabe von Nikotinsäure, ß-Pyridylcarbinol und CPIB, da die Wirkungsweise bzw. der Wirkungsort im molekularen Bereich dieser serumcholesterinsenkenden Medikamente noch weitgehend unklar ist.
Eine Beeinflussung der hepatischen Cholesterinsynthese durch Nikotinsäure und ß-Pyridylcarbinol konnten wir dabei weitgehend ausschließen.

Nach CPIB-Gabe dagegen kommt es zu einer raschen und starken Senkung, vor allem des ^{14}C-Acetateinbaus in das Cholesterin, so daß als Wirkungsort dieses Medikaments in erster Linie eine Beeinflussung der hepatischen Cholesterinsynthese und zwar zwischen Acetat und Mevalonat, vermutlich über direkte oder indirekte Einflüsse auf Konzentration oder Aktivität der HMG CoA-Reduktase anzunehmen ist.

7. LITERATURHINWEISE

1. AVOY,D.R., E.A.SWYRYD, R.G.GOULD:
Effects of CPIB with an without androsterone on cholesterol biosynthesis in rat liver.
J. Lipid.Res. 6, 369 (1965)

2. ALTSCHUL, R., A. HOFFER und I.D. STEPHAN:
Influence of nicotinic acid on serum cholesterol in man.
Arch.Biochem.Biophys. 54, 558 (1955)

3. AZARNOFF, D.L., D.R.TUCKER and G.A. BARR:
Studies with ethyl chlorophenoxyisobutyrate (clofibrate).
Metabolism. 14, 959-965 (1965)

4. BOGUS, J.Y.:
Symposium on Atromid, Buxton, England.
June 5-6, 1963
J. Atheroscler. Res. 3, 341 (1963)

5. BUCHER, N.L.R., P. OVERATH and F. LYNEN:
ß-hydroxy-ß-methyl-glutaryl coenzyme reductase, cleavage and condensing enzymes in relation to cholesterol formation in rat liver.
Biochem. Biophys. Acta 40, 491-501 (1960)

6. CORLSON, L.A.:
Studies on the effect of nicotinic acid on catecholamine stimulated lipolysis in adipose tissue in vitro.
Acta med. Scand. 173, 719 (1963)

7. CARLSON, L.A. and E.R. NYE:
Acute effects of nicotinic acid in the rat.
1. Plasma and liver lipids and blood glucose.
Acta med. Scand. 179, 453 (1966)

8. CARLSON, L.A. and L. ORÖ:
The effect of nicotinic acid on the plasma free fatty acids. Demonstration of a metabolic type of sympathicolysis.
Acta med. Scand. 172, 641 (1962)

9. DAYTON, S.:
Rationale for use of lipid-lowering drugs.
Fed. Proc. 30, 849 (1971)

10. DE RITTER, E.:
Evaluation of nicotinyl alcohol timespan tablets in humans by urinary excretion tests.
Drug Stand. 28, 276 (1960)

11. GAYLOR, J.L., R.W.F.HARDY and C.A. BAUMANN:
Effect of nicotinic acid and related compounds on sterol metabolism with chick and rat.
J. Nutr. 70, 293 (1960)

12. GOULD, R.G., E.A. SWYRYD, P. AVOY and B. COAN:
The effects of α-p-chlorphenoxyisobutyrate on the synthesis and release into plasma of lipoproteins in rats.
Progr. Biochem. Pharmakol. 2, 345 (1967)

13. HAMPRECHT, B.:
Regulation der Cholesterolsynthese.
Naturwissenschaften 56, 398 (1969)

14. MIETTINEN, T.A.:
Effect of nicotinic acid on catabolism and synthesis of cholesterol in man.
Clin. Chem. Acta 20, 43 - 51 (1968)

15. OLIVER, M.J.:
Reduction of serum lipid and uric acid levels by an orally active androsterone.
Lancet 13, 21 (1962)

16. OLIVER, M.F.:
The current status of ethyl-chlorphenoxy-isobutyrate (atromid-S).
Progr. Biochem. Pharmacol. 2, 315 (1967)

17. PARSONS, W.B. Jr.:
Reduction in hepatic synthesis of cholesterol from ^{14}C-Acetate in hypercholesteremic patients by nicotinic acid (p).
Circulation 24, 1099 Abstract (1961)

18. RAAFLAUB, J.:
Zur Umwandlung von ß-Pyridylcarbinol in Nikotinsäure im tierischen Organismus.
Experientia (Basel), 22, 258 (1966)

19. RYAN, W.G. and T.B. SCHWARTZ:
The dynamics of triglyceride turnover: effect of "Atromid-S".
J. Lab. clin. Med. 64, 1001 (1964)

20. SHAPIRO, D.J. and V.W. RDOWELL:
Diurnal variation and cholesterol regulation of hepatic HMG-CoA reductase activity.
Biochem. Biophys. Res. Communications 37, 867-872 (1969)

21. SIPERSTEIN, M.D. and V.M. FAGAN:
Inhibition of mevalonate synthesis by dietary cholesterol.
Fed. Proc. 21, 300 (1962)

22. SIPERSTEIN, M.D. and V.M. FAGAN:
Studies on the feedback regulation of cholesterol synthesis.
Advan. Enzyme Regulation 2, 249 (1964)

23. SIPERSTEIN, M.D. and V.M. FAGAN:
Feedback control of mevalonate synthesis by dietary cholesterol.
J. Biol. Che,. 241, 602-609 (1966)

24. SIPERSTEIN, M.D. and V.M. FAGAN:
Furhter studies on the site of the feedback control of cholesterol synthesis.
J. Clin. Invest. 39, 624-652 (1960)

25. SIPERSTEIN, M.D., A.M. GYDE and H.P. MORRIS:
Loss of feedback control of hydroxymethyl-glutaryl coenzyme. A reductase in hepatomas.
Proc.Nat. Ac. Science 68, 315-317 (1971)

26. THORP, J.M. and W.S. WARING:
Modification of metabolism and distribution of lipids by ethyl chlorophenoxyisobutyrate.
Nature 194, 948 (1962)

Für die freundliche Hilfe in allen technischen und sachlichen Fragen bei der Durchführung der experimentellen Arbeiten danke ich ganz besonders Herrn Priv. Doz. Dr. W. Kaiser.

L E B E N S L A U F

Am 15.7.1946 wurde ich als Sohn des Kfz.-Werkmeisters Otto Huber und seiner Ehefrau Therese, geb. Schwarzmaier, in München geboren.

Von 1952 bis 1957 besuchte ich die Volksschule an der Werdenfelsstraße in München.

1957 wechselte ich in die Höhere Schule über und besuchte von 1957 bis 1959 die Klenze Oberrealschule und von 1959 bis 1966 das Erasmus-Grasser Gymnasium in München.

Im Juni 1966 legte ich dort die Reifeprüfung ab.

Mit dem Medizinstudium begann ich im Oktober 1966 an der Universität München.

Am 24.10.1967 beendete ich die naturwissenschaftliche Vorprüfung und am 1.4.1969 die ärztliche Vorprüfung.

Das Staatsexamen bestand ich am 16.6.1972.

Mit meiner Doktorarbeit war ich in der Zeit vom September 1969 bis September 1971 beschäftigt.